

This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problem Mailbox.**

AN 1988-186414 [27] WPIDS  
DNC C1988-083174

TI Gamma-halo-8-hydroxy butyrate ester prodn. - by converting gamma-halo acetoacetate ester using culture broth, cells or treated cells of specified microorganism.

DC B05 D16 E16

PA (ELED) DENKI KAGAKU KOGYO KK

CYC 1

PI JP 63123387 A 19880527 (198827)\* 8p <--

ADT JP 63123387 A JP 1986-268678 19861113

PRAI JP 1986-268678 19861113

AN 1988-186414 [27] WPIDS

AB JP 63123387 A UPAB: 19930923

In the prodn. of gamma-halo-beta-hydroxybutyrate ester, culture broth, cells or treated cells of bacteria capable of converting gamma-haloacetoacetate ester into corresp. gamma-halo-beta-hydroxybutyrate ester acts on gamma-haloacetoacetate ester and the prod. is collected.

Usable bacterial strains are *Aureobacterium terregens* IFO 12961, *Alcaligenes faecalis* IFO 12669, *Agrobacterium radiobacter* IAM 1526, *Arthrobacter simplex* IFO 12069, *Amorphosporangium auranticolor* JCM 3038, *Brevibacterium ammoniagenes* IFO 12071, *Bacillus subtilis* IFO 3037, *Corynebacterium glutamicum* No. 534 ATCC 13032, *Cellulomonas* sp. AKU 672, *Escherichia coli* K12 IFO 3208, *Enterobacter aerogenes* JCM 1235, *Lactobacillus amylophilus* JCM 1124, *Micrococcus luteus* IFO 12708, *Micromonospora grisea* JCM 3182, *Nocardia corallina* IAM 12121, *Pseudomonas cruciviae* IFO 12047, *Protomonas extroquens* JCM 2811, *Rhodococcus corallina* JCM 3199, *Streptomyces arabicus* JCM 4161, *Xanthomonas maltophilia* JCM 1975, etc.

USE/ADVANTAGE - Yield of gamma-halo-beta-hydroxybutyrate ester is high. Produced ester is useful as a synthetic material for medicines such as L-carnitine.

0/0

① 日本国特許庁 (JP)

② 特許出願公開

③ 公開特許公報 (A)

昭63-123387

④ Int.CI.  
C 12 P 7/62

風別記号 庁内登録番号  
7236-4B\*

⑤ 公開 昭和63年(1988)5月27日

審査請求 未請求 発明の数 1 (全8頁)

⑥ 発明の名称 ヨーハロー-β-ヒドロキシ脂肪酸エステルの製造法

⑦ 特 願 昭61-268678

⑧ 出 願 昭61(1986)11月13日

⑨ 発明者 山田 秀明 京都府京都市左京区松ヶ崎木ノ本町19-1

⑩ 発明者 清水 昌 京都府京都市中京区西ノ京伯楽町14

⑪ 発明者 三好 黒三 東京都町田市旭町3丁目5番1号 電気化学工業株式会社  
中央研究所内

⑫ 発明者 加藤 正明 東京都町田市旭町3丁目5番1号 電気化学工業株式会社  
中央研究所内

⑬ 発明者 山本 浩幸 東京都町田市旭町3丁目5番1号 電気化学工業株式会社  
中央研究所内

⑭ 出願人 電気化学工業株式会社

最終頁に続く

### 明細書

#### 1. 発明の名称

ヨーハロー-メ-ヒドロキシ脂肪酸エステルの製造法

#### 2. 特許請求の範囲

(1) ヨーハロー-アセト酢酸エステルを対応するヨーハロー-β-ヒドロキシ脂肪酸エステルに変換する能力を有するバクテリアの培養液、菌体、又は菌体処理物をヨーハロー-アセト酢酸エステルに作用させ、生成物を採取することを特徴とするヨーハロー-メ-ヒドロキシ脂肪酸エステルの製造法。

#### 3. 発明の詳細を説明

##### (技術上の利用分野)

本発明はヨーハロー-アセト酢酸エステルにバクテリアを作用させて、ヨーハロー-メ-ヒドロキシ脂肪酸エステルを製造する方法に関するものである。ヨーハロー-メ-ヒドロキシ脂肪酸エステルはレカルニチン等の医薬合成原料として有用である。

(従来の技術及び発明が解決しようとする問題)  
ヨーハロー-アセト酢酸エカルルを化学的に還元して

対応するヨーハロー-メ-ヒドロキシ脂肪酸エステルを製造する場合、開反応が起こりやすく、目的物の収率が低いという欠点がある。そこでこれらを解決するために、レ-メ-ヒドロキシアシルCOAデヒドロゲナーゼを産生する微生物の発酵培养作用を利用する方法(特開昭59-118093号公報)が提案された。しかし、報告されている微生物は、酵母、カビであり、更に、蜜糞等の条件下により改良を加えるにあたって有利なバクテリアを利用する方法の確立が求められている。

[問題点を解決するための手段]

本発明は、ヨーハロー-アセト酢酸エステルを対応するヨーハロー-β-ヒドロキシ脂肪酸エステルに変換する能力を有するバクテリアの培養液、菌体、又は菌体処理物をヨーハロー-アセト酢酸エステルに作用させ、生成物を採取することを特徴とするヨーハロー-メ-ヒドロキシ脂肪酸エステルの製造法である。

本発明で用いるヨーハロー-アセト酢酸エステルは、  
一般式:  $R_1 - CH_2CO \cdot CH_2COOR_2$

(式中 R<sub>1</sub> はハロゲンで、り、  
R<sub>2</sub> はアルキル基、フェニル基、アリ  
ール基等の任意の有機基である)

で示される化合物である。

本発明で用いるアーハロアセト酢酸エステルは、  
例えは有機酸塩でハロゲンとジケテンを反応させ  
ることにより得られるが、必要なアーハロアセ  
ト酢酸エステルから有機のケリニヤール反応によ  
つても製造することができる。

本発明で用いるバクテリアは、アーハロアセト  
酢酸エステルを対応するアーハロ-β-ヒドロキ  
シ酢酸エステルに変換する能力を有するバクテリ  
アであり、例えは、

オーレオバクテリウム (*Aureobacterium*) ■  
アルカリゲネス (*Alcaligenes*) ■  
アグロバクテリウム (*Agrobacterium*) ■  
アリスロバクター (*Arthrobacter*) ■  
アモルフォスボランギウム (*Amorphosporangium*) ■

■

アムラリエラ (*Ampullariella*) ■

プロトモナス (*Protomonas*) ■  
ロドコッカス (*Rhodococcus*) ■  
セラテア (*Serratia*) ■  
ストレプトマイセス (*Streptomyces*) ■  
サーモアクチノミセス (*Thermoactinomyces*) ■

■

キサントモナス (*Xanthomonas*) ■  
エルシニア (*Yersinia*) ■  
に属するバクテリアである。更に具体例をあげる  
と、

オーレオバクテリウム タレゲンス IFO 12961  
(*Aureobacterium terregens*)  
アルカリゲネス ファエカリス IFO 12669  
(*Alcaligenes faecalis*)  
アグロバクテリウム ラジオバクター IAM 1526  
(*Agrobacterium radiobacter*)  
アリスロバクター シンプレクタス IFO 12069  
(*Arthrobacter simplex*)  
アモルフォスボランギウム アクランティカタ JCM 3038  
(*Amorphosporangium auranticolor*)

ブレビバクテリウム (*Brevibacterium*) ■  
バチルス (*Bacillus*) ■  
コリネバクテリウム (*Corynebacterium*) ■  
セルロモナス (*Cellulomonas*) ■  
エシエリヤア (*Escherichia*) ■  
エンテロバクター (*Enterobacter*) ■  
フラボバクテリウム (*Flavobacterium*) ■  
ハフニア (*Hafnia*) ■  
クルテア (*Kurthia*) ■  
ラクトバチルス (*Lactobacillus*) ■  
ミクロコッカス (*Micrococcus*) ■  
メタノモナス (*Methanomonas*) ■  
メチロバシルス (*Methyllobacillus*) ■  
ミクロビスピラ (*Microbispila*) ■  
ミクロモノスpora (*Micromonospora*) ■  
ノカルジア (*Nocardia*) ■  
プロテウス (*Proteus*) ■  
シュードモナス (*Pseudomonas*) ■  
ペデオコッカス (*Pediococcus*) ■  
プランモノスpora (*Planomonospora*) ■

アムラリエラ キリニゲリカ JCM 3329  
(*Ampullariella cylindrica*)  
ブレビバクテリウム アンモニアゲネス IFO 12071  
(*Brevibacterium ammoniagenes*)  
バチルス ズバチルス IFO 3037  
(*Bacillus subtilis*)  
コリネバクテリウム グルタミクム ATCC 13032  
(*Corynebacterium glutamicum*)  
セルロモナス エスピー AKU 672  
(*Cellulomonas sp.*)  
エシエリヤア コリ K 1 2 IFO 3208  
(*Escherichia coli*)  
エンテロバクター アエロゲネス JCM 1235  
(*Enterobacter aerogenes*)  
フラボバクテリウム エステロアロマティクム IFO 3751  
(*Flavobacterium esteroaromaticum*)  
ハフニア アルベイ IFO 3731  
(*Hafnia alvei*)  
クルテア ソフィ IFO 12083  
(*Kurthia soffii*)

ラクトバチルス アミロフィルス JCM 1124  
 ( *Lactobacillus amylophilus* )  
 ミクロコクカス ルテウス IPO 12708  
 ( *Micrococcus luteus* )  
 メタノモナス メチロボラ JCM 2848  
 ( *Methanomona methylovora* )  
 メチロバシルス グリコゲネス JCM 2850  
 ( *Methyllobacillus glycogenes* )  
 ミクロビスボラ アエラタ JCM 3076  
 ( *Microbispora aerata* )  
 ミクロモノスボラ グリセア JCM 3182  
 ( *Micromonospora grisea* )  
 ノカルジア コラリナ IAM 12121  
 ( *Nocardia corallina* )  
 プロテウス ミラビルス IPO 3849  
 ( *Proteus mirabilis* )  
 シュードモナス タルシビニア IPO 12047  
 ( *Pseudomonas cruciviae* )  
 ペディオコッカス ペントサセウス JCM 2023  
 ( *Pediococcus pentosaceus* )

プランモノスボラ ベネズエレシエンシス JCM 3167  
 ( *Planomonospora venezuelensis* )  
 プロトモナス エクストロタエンス JCM 2811  
 ( *Protomonas extroquens* )  
 ロドコッカス コラリナ JCM 3199  
 ( *Rhodococcus corallina* )  
 セラテア マルセシエンス IAM 1105  
 ( *Seratia marcescens* )  
 ストレプトマイセス アラビクス JCM 4161  
 ( *Streptomyces arabicus* )  
 ターモアクタノミセス サッカリ JCM 3157  
 ( *Thermoactinomyces sacchari* )  
 キサントモナス マルトフィリア JCM 1975  
 ( *Xanthomonas maltophilia* )  
 ヨルシニア ルケリ JCM 2429  
 ( *Yersinia ruckeri* )

等である。これらの菌株は財團法人農林研究所(IPO)、東京大学応用微生物研究所(IAM)、または理化研究所微生物系保育所(JCM)、ATCC等に、それぞれの番号で保管されており、

必要に応じて容易に入手できる菌株である。このうち、セルロモナスエスピーアE672株は本発明者が見いだした菌株であり、工業技術院微生物工芸技術研究所に寄託番号9026番で寄託されている。生物学的性質を次に示す。

## 1 形態

### (1) 菌胞の形及び大きさ：

Old culture : 球菌、0.5~0.6 μm

Fresh culture : 不定形、桿菌、径0.5~0.7 μm、長さ>2.0 μm

### (2) 多形性の有無：有

### (3) 運動性の有無：有

### (4) 細毛の有無：有

### (5) 孢子の有無：無

### (6) グラム染色性：陽性

## 2 各場所での生育状況

### (1) 内汁摩天平板培養

コロニーの色：黄褐色(2日間培養)

コロニーの形狀：円形、平滑

コロニーの隆起：中央凸状

### コロニーの周縁：全縁

### (2) 内汁液体培養

菌珠、やや沈殿有

### (3) 肉汁ゼラチン穿刺培養：液化する

### (4) リトマスミルク：酸化生成する

## 3 生理学的性質

### (1) 頸酸塩の還元：有

### (2) MRテスト：陰性

### (3) VPテスト：陰性

### (4) インドールの生成：陰性

### (5) 漢化水素の生成：陰性

### (6) テンブンの加水分解：陰性

### (7) クエン酸の利用：陰性

### (8) 巴氏の生成：無

### (9) ウレアーゼ：陰性

### (10) オキシダーゼ：陰性

### (11) カタラーゼ：陰性

### (12) 酸素に対する態度：好気性

### (13) 生育の範囲

温度 37~42°C

pH 6.0 ~ 7.5

⑩ オラナスト : 発酵  
 ⑪ セルロースに対する作用 : 負性  
 ⑫ 糖類からの糖及びガスの生成の有無

糖類	糖	ガス
① L-アラビノース	+	-
② Arabin	+	-
③ セルロビオース	+	-
④ デキストリン	+	-
⑤ D-フランクトース	+	-
⑥ D-ガラクトース	+	-
⑦ D-グルコース	+	-
⑧ グリコーゲン	+	-
⑨ マルトース	+	-
⑩ アンプン	+	-
⑪ ショ糖	+	-
⑫ トレハロース(trehalose)	+	-
⑬ キシロース	+	-
⑭ グリセロール	-	-
⑮ イヌリン	-	-

- ⑯ 乳糖 - -  
 ⑰ マニトール - -  
 ⑱ マヌノース - -  
 ⑲ α-メチルグルコシド - -  
 (α-methylglucoside )  
 ⑳ ラフィノース - -  
 ㉑ ラムノース - -  
 ㉒ ソルビトール - -  
 ㉓ ソルボース - -  
 ㉔ DNA 分解性 : 隅性  
 ㉕ カゼイン分解性  
 アミノペプチダーゼ活性 : 負性  
 ㉖ 耐塩性 : NaCl 5%まで生育する  
 ㉗ 細胞壁のアミノ酸 : オルニチン  
 ㉘ 細胞分裂 : 扇型  
 ㉙ DNA の GC 含量 : 74.7 %  
 ㉚ スキムミルク中における熱処理：  
 63°C、30 分処理で生存  
 以上の生物学的性質により、本菌はコリネフオル  
 パクテリアに属し、山田らの方法 (J. Gen.

Appl. Microbiol., 18, 417 (1972) )

にについて検索すると

- ① セルロース分解活性が欠損  
 ② 細胞分裂が扇型  
 ③ 細胞壁のアミノ酸がオルニチン  
 ④ GC 含量が 71 ~ 73% と細胞が狭く高含  
量

⑤ 広範囲の糖から発酵により酸を作り  
 という点から、第 4 グループに属し、セルロオナ  
 スエスピードと同定された。

上記のパクテリアは一般的な性質として自然あるいは人工的手法により異異を起こし得るが、アーハロアセト酸エステルを基元としてアーハロ-アーヒドロキシ酸エステルに変換するものすべて本発明の製造法に利用し得る。

本発明で用いるパクテリアは常法に従つて培養することができる。培養に用いられる培地はパクテリアの生育に必要な炭水化合物、蛋白質、無機物質等を含む通常の培地である。更にビタミン、アミノ酸等の有機酸盐栄養素を添加すると菌苔しい結

果が得られる場合が多い。

培養は好気的条件下に 3 ~ 8、菌数 10 ~ 40°C の適当な範囲にて種しつつ 1 ~ 10 日間培養を行う。反応にあたつては、パクテリアの培養液、培養液から分離採取した培養固体などいずれも使用できる。また固体処理物として、球形乾燥やアセトン乾燥などの方法で得た乾燥固体、固体を磨碎あるいは自己消化、超音波処理などの方法で得た固体微粉液のはか、アーハロアセト酸エステルを対応するアーハロ-アーヒドロキシ酸エステルを対応するアーハロアセト酸エステルに変換する酵素活性を有する酵素タンパク区分、更にはこれら固体または固体処理物の固定化物、その他いすれも使用できる。

アーハロアセト酸エステルを対応するアーハロ-アーヒドロキシ酸エ斯特ルに変換する方法は、水性液体中にアーハロアセト酸エ斯特ルと上記パクテリアの培養液、固体、固体処理物あるいはこれらを公知の方法で固定化したものと置換されれば良い。

かかる反応時の水性液体としては、水、緩衝液

および含水有機化合物が用できる。

上記パクテリアセト-ハロアセト酢酸エステル反応をせんには、油膏、H<sub>2</sub>S 3~8、及反応温度を10~60℃の範囲で調節しつつ行なう。

反応系に対してアーハロアセト酢酸エステルはそのまま、あるいは脂質に溶解するか、あるいは分離させて使用する。

反応系のエステル濃度は油膏 0.001~50%程度の範囲が良い。かかるアーハロアセト酢酸エステルの濃度は反応の任意の段階で可能であり、一括、逐次、分割のいずれの手段でも実施できる。

反応時にグルコース等の糖類や、微生物の栄養素、界面活性剤等を共存させて反応を行なうことでもできる。反応時間は、該反応条件により調整できるか、長くとも48時間程度を行なえば、アーハロアセト酢酸エステルは対応するアーハロ-ア-ヒドロキシ醋酸エステルに変換される。

このようにして得られたアーハロ-ア-ヒドロキシ醋酸エステルを培養液又は反応液より採取するには、固形又は液体処理細胞を遠心分離や膜外離

過剰の油に残つて除去し、エーテル、四塩化炭素、ベンゼン、酢酸エチル等の有機溶媒を用いて抽出する方法等の通常の方法を採用することができる。

#### [実施例]

次に、実施例によつて本発明の方法を更に詳しく説明する。

#### 実施例1

グルコース 5 頃放量、コーン・スティーブ・リカ-5 頃放量からなる培地 (pH 6.5) 5 ml を試験管に取り、表に示した微生物を接種して 28℃で 48 時間振とう培養を行つた。

この系にアーチロロアセト酢酸メチル 2.5% を添加し、さらに 24 時間振とう培養を行なうと反応を行なつた。

得られた反応液を遠心分離で濁液を処理した後、反応液 2 ml を酢酸エチル 4 ml で抽出し、ガスクロマトグラフイー (当社 OC-9 APP, PEG 20 M × 1 m, 150℃, N<sub>2</sub> 30 ml/min) で分析した。結果を表に示す。

#### 実施例2

アーチロロアセト酢酸エチルを基質に用いて実施例1と同様に反応を行い、分析した。結果を表に示す。

以下 余白

四

バクテリア	生菌量 (× 10 <sup>20</sup> / ml)	
	実測値	
	アーチロローバー <sup>ヒ</sup> ドロキシ酸脱メチル	アーチロローバー <sup>ヒ</sup> ドロキシ酸脱エチル
1 オーレオバクテリウム テレサンス IPO 12961	11	10
2 アルカリバクス フエカリス IPO 12669	2	2
3 アプロバクテリウム ラジオバクター IAM 1526	11	10
4 アクスロバクター シンプレクタス IPO 12069	22	20
5 アラバクスオボランギウム アウランタイカー JCM 3038	9	8
6 アムラクテラ <sup>ヒ</sup> キラテリカ JCM 5529	2	2
7 アレビバクテリウム アンペニアゲネス IPO 12071	8	8
8 バクテス ブチルス IPO 3037	6	6
9 コリニバクテリウム ブルタリム ATCC 15052	25	21
10 セルロバクス エスピー AKU 672	36	35
11 エシエリヤア コリ K12 IPO 3208	0.4	0.3
12 エンタロバクター アエロゲネス JCM 1255	0.5	0.5
13 フラクバクテリウム エヌタロアロアティウム IPO 5751	9	8
14 ハフニア タルバ IPO 3731	3	3
15 タケナツ ヴィ IFO 12083	7	7
16 ラクトバクテルス アピロフィルス JCM 1124	5	5

バクテリア	生菌量 (× 10 <sup>20</sup> / ml)	
	実測値	
	アーチロローバー <sup>ヒ</sup> ドロキシ酸脱メチル	アーチロローバー <sup>ヒ</sup> ドロキシ酸脱エチル
17 エタロコフカス ルテウス IPO 12708	26	24
18 メタノモナス メタロボラ JCM 2848	1	1
19 メタロバクテルス ドリコゲネス JCM 2850	2	2
20 エタロビスピロラ アエクタ JCM 3076	1	1
21 エタロセノスボラ ドリヤア JCM 3182	2	2
22 ノカルシア コラリナ IAM 12121	7	7
23 プロテウス イラビルス IPO 3849	0.4	0.3
24 シュードモナス タルシビアエ IPO 12047	3	3
25 ベヤオコフカス ベントサセウス JCM 2023	2	2
26 プラノモノスボラ ベネズエレンジス JCM 3167	1	1
27 プロトモナス エクストロクエンス JCM 2811	1	1
28 ポドコフカス コラリナ JCM 3199	23	21
29 セラテア マルセシエンス IAM 1105	10	10
30 ストレプトマイセス アラビタス JCM 4161	0.8	0.7
31 サーベアタナノミセス サフカリ JCM 3157	0.6	0.5
32 キナントモナス マルトフイリア JCM 1975	0.6	0.5
33 エルシニア ルケリ JCM 2429	5	5

## 実施例3

グルコース5重量%、コーン・スタイープリカー5重量%からなる培地(pH 6.5)5mlを試験管に取り、セルロースナスエスピーアク672(株工業器械9026号)を回転して28℃で24時間培養を行う培養を行ない遮光実験を行なつた。

次に上記と同じ培養の培地100mlを500ml密閉口フラスコに取り、酵母液5mlを添加して28℃で繰り返す培養を行なつた。

得られた培養液を遠心分離し、0.9%NaCl水で洗浄したのち、1(%)%のグルコースを含む0.1Mリン酸緩衝液(pH 6.0)100mlを添加し、ア-クロロアセト酢酸エチル1.0gを添加し、通気、繰り返しながら18時間反応を行なつた。

得られた反応液を遠心分離で酵母を除いた後、酢酸エチル300ml(100ml×3回)で抽出を行なつた。この酢酸エチル層に無水硫酸マグネシウムを添加、脱水したのち、減圧濃縮して0.98gの油状生成物を得た。このものを減圧昇華してIR(島津IR-435)、NMR(日本電子PMS)によると実施例3と同様にして反応を行ない、ガスクロマトグラフ(島津OC-9 APP、OV-1×1m、125℃、N<sub>2</sub>30ml/分)、IR(島津IR-435)、NMR(JEOL GX-270)で確認したところ、ア-クロロ-β-ヒドロキシ酢酸オクタノールであることを確認した。

実施例3と同様にして反応を行ない、ガスクロマトグラフ(島津OC-9 APP、OV-1×1m、125℃、N<sub>2</sub>30ml/分)、IR(島津IR-435)、NMR(JEOL GX-270)で確認したところ、ア-クロロ-β-ヒドロキシ酢酸オクタノールであることを確認した。また、反応収率は50%であつた。

尚、過剰な1mlの10%Tween 80(KAO-ATLAS)で乳化して反応系に添加した。

## 実施例6

実施例3と同様にして得た粗菌体10gを20mlの0.1Mリン酸緩衝液(pH 6.5)にけん引し、氷水で冷却しながら5分間の超音波処理を4回行い、遠心分離で不溶物を除去することにより、粗酵素液を得た。

この粗酵素液10mlにNADPH(シグマ社)200μlを加え、ア-クロロアセト酢酸エチル20mlを4時間で分離し、さらに4時間反応を行つた後、実施例3と同様にして反応液を分析したところ、ア-クロロ-β-ヒドロキシ酢酸エチルの収率は

60.8%、ガスクロマトグラフ(島津OC-9 APP、FID 20m×1m、150℃、N<sub>2</sub>30ml/min)で確認したところ、ア-クロロ-β-ヒドロキシ酢酸エチルであることを確認した。

## NMR

$\delta$ (CDCl<sub>3</sub>中): δ(ppm)  
1.25(3H, t), 2.60(2H, d),  
3.35(1H, s, exchangeable, OH)  
3.60(2H, d), 4.2(2H, q)

0°C

R.T(分) 4.6

## 実施例4

イクロコッカス ルナクス IPO12708を実施例3と同様にして培養と反応を行ない生成物を分離したところ0.85gの油状生成物を得た。さらに、実施例3と同様の方法で同定したところ、ア-クロロ-β-ヒドロキシ酢酸エチルであることを確認した。

## 実施例5

ア-クロロアセト酢酸オクタノールを基質に用いて、

90%であつた。

## 実施例7

実施例3と同様にして培養し、得られた培養液にシユーカロース10gを添加し、油状培養しながらア-クロロアセト酢酸エチル1gを8時間で分離し、さらに油状培養を8時間行い実施例1と同様にして反応液を分析したところア-クロロ-β-ヒドロキシ酢酸エチルの収率は40%であつた。

## 【発明の効果】

本発明によればア-ハロアセト酢酸エチルからア-ハロ-β-ヒドロキシ酢酸エチルを高収率で得ることができ、工業的に有利である。

## 第1頁の続き

④Int.Cl.	識別記号	序内整理番号
#(C 12 P	7/62	
(C 12 R	1:01)	
(C 12 P	7/62	
(C 12 R	1:05)	
(C 12 P	7/62	
(C 12 R	1:06)	
(C 12 P	7/62	
(C 12 R	1:07)	
(C 12 P	7/62	
(C 12 R	1:13)	
(C 12 P	7/62	
(C 12 R	1:15)	
(C 12 P	7/62	
(C 12 R	1:185)	
(C 12 P	7/62	
(C 12 R	1:20)	
(C 12 P	7/62	
(C 12 R	1:225)	
(C 12 P	7/62	
(C 12 R	1:265)	
(C 12 P	7/62	
(C 12 R	1:29)	
(C 12 P	7/62	
(C 12 R	1:365)	
(C 12 P	7/62	
(C 12 R	1:37)	
(C 12 P	7/62	
(C 12 R	1:38)	
(C 12 P	7/62	
(C 12 R	1:425)	
(C 12 P	7/62	
C 12 R	1:465)	

④Int.Cl.	識別記号	序内整理番号
(C 12 P	7/62	
C 12 R	1:64)	